МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Нетилмицина сульфат** |  | **ФС** |
| **Нетилмицин** |  |  |
| **Netilmicini sulfas** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
| *O*-3-Дезокси-4-*C*-метил-3-(метиламино)-β-L-арабинопиранозил-(1→6)-*O*-[2,6-диамино-2,3,4,6-тетрадезокси-α-D-*глицеро*-гекс-4-енопиранозил-(1→4)]-2-дезокси-*N*1-этил-D-стрептамина сульфат (2:5) | |
|  | |
| (C21H41N5O7)2∙5H2SO4 | М.м. 1441,6 |

Cодержит не менее 95,0 % и не более 102,0 % нетилмицина сульфата (C21H41N5O7)2 ∙5H2SO4 в пересчёте на сухое вещество.

**Описание.** Белый или желтовато-белый порошок.

\*Очень гигроскопичен.

**Растворимость.** Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в ацетоне и спирте 96 %.

**Подлинность**

*1. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика нетилмицина на хроматограмме раствора стандартного образца нетилмицина сульфата (раздел «Родственные примеси»).

*2.* *Качественная реакция.* Субстанция должна давать характерную реакцию на сульфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

**Удельное вращение.** От +88,0 до +96,0 в пересчёте на сухое вещество (5 % раствор субстанции в воде, ОФС «Поляриметрия»).

**Прозрачность раствора.** Раствор 0,8 г субстанции в 20 мл воды должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Оптическая плотность раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см в максимуме поглощения при длине волны 400 нм, не должна превышать 0,08 (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

**рН.** От 3,5 до 5,0 (4 % раствор субстанции в воде ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Растворы готовят в защищенном от света месте.

*Буферный раствор.* Растворяют 27,22 г калия дигидрофосфата в 900 мл воды и доводят рН раствора фосфорной кислотой разведённой 20 % до 3,00±0,05. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 0,3 г натрия октансульфоната, 20 г натрия сульфата безводного, 20 мл тетрагидрофурана, 50 мл буферного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца нетилмицина сульфата.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг (точная навеска) стандартного образца нетилмицина сульфата, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца сизомицина сульфата.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 25 мг (точная навеска) стандартного образца сизомицина сульфата (CAS 53179-09-2), растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца 1-N-этилгарамина сульфата.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 25 мг (точная навеска) стандартного образца 1*-N-*этилгарамина сульфата (CAS 864371-49-3), растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,6 мл раствора стандартного образца нетилмицина сульфата, 1,0 мл раствора стандартного образца сизомицина сульфата, 1,0 мл раствора стандартного образца 1-*N*-этилгарамина сульфата и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор для идентификации примесей.* Растворяют 5 мг стандартного образца нетилмицина для идентификации пиков (содержит примеси Е и F нетилмицина) в 2,5 мл ПФ.

Примечание

Примесь А (сизомицин): *O*-3-дезокси-4-*C*-метил-3-(метиламино)-β-L-арабинопиранозил-(1→6)-*O*-[2,6-диамино-2,3,4,6-тетрадезокси-α-D-*глицеро*-гекс-4-енопиранозил-(1→4)]-2-дезокси-D-стрептамин, CAS 32385-11-8.

Примесь В (1-*N*-этилгарамин):*O*-3-дезокси-4-*C*-метил-3-(метиламино)-β-L-арабинопиранозил-(1→6)-2-дезокси-*N*1-этил-D-стрептамин.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 50 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Раствор после колонки | 20% раствор натрия гидроксида (свежеприготовленный); |
| Подача раствора после колонки | Беспульсирующая со скоростью 0,3 мл/мин посредством смешивающей петли объемом 375 мкл |
| Детектор | Пульс-амперометрический с золотым индикаторным электродом, хлорсеребряным электродом сравнения и стальным вспомогательными электродом, представляющим собой корпус электрохимической ячейки; потенциалы: ± 0,05 В детектирование, + 0,75 В окисление, – 0,15 В восстановление с продолжительностью импульса в соответствии с используемым инструментом. |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания пика нетилмицина. |

Хроматографируют раствор для идентификации примесей, стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пиков примесей А и В используют хроматограмму стандартного раствора. Для идентификации пиков примесей Е и F используют раствор для идентификации примесей.

*Относительное время удерживания соединений.* Нетилмицин – 1 (около 16 мин), примесь В – около 0,4; примесь А – около 0,7, примесь Е – около 1,9; примесь F – около 2,1.

*Пригодность хроматографической системы*. Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме стандартного раствора:

– *разрешение (RS)* между пиками примеси А и В должно быть не менее 10,0;

– *разрешение (RS)* между пиками примеси А и нетилмицином должно быть не менее 6,0.

Содержание примесей А и В (каждой) в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика каждой соотвествующей примеси А и В на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика каждой соответствующей примеси А и В на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска каждого соответствующего стандартного образца сизомицина сульфата и 1-*N*-этилгарамина сульфата, мг; |
|  | *P* | − | содержание нетилмицина в стандартном образце нетилмицина сульфата, %. |

Содержание любой другой примеси в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика любой другой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика каждой соответствующей примеси на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца нетилмицина сульфата, мг; |
|  | *P* | − | содержание нетилмицина сульфата в стандартном образце нетилмицина сульфата, %. |

*Допустимое содержание примесей*

– каждой из примесей: А, В, Е, F – не более 1,0 %;

– любая другая примесь – не более 0,30 %;

– сумма примесей– не более 3,0 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее площади основного пика на хроматограмме стандартного раствора (не более 0,1 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 15 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 2). Около 0,5 г (точная навеска) субстанции высушивают в вакууме при температуре 110 °С в течение 3 ч.

**Сульфаты.** От 31,5 до 35,0 % в пересчёте на сухое вещество. Около 0,120 г (точная навеска) субстанции растворяют в 100 мл воды и доводят значение рН до 11 аммиаком водным. Прибавляют 30,0 мл 0,1 М раствора бария хлорида и около 0,5 мг фталеинового пурпурного. Титруют 0,1 М раствором натрия эдетата, прибавив 50 мл спирта 96 % при начале изменения окраски, до исчезновения фиолетово-синего окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора бария хлорида соответствует 9,606 мг сульфат-иона SO4.

**Сульфатная зола.** Не более 1,0 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 0,5 г (точная навеска) субстанции.

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**\*\*Аномальная токсичность**. Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза 0,15 мг нетилмицина сульфата в 0,5 мл раствора натрия хлорида 0,9% для инъекций на мышь. Срок наблюдения 48 ч.

**\*\*Бактериальные эндотоксины**. Не более 0,66 ЕЭ на 1 мг нетилмицина сульфата (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»). Растворы готовят в защищенном от света месте.

*Буферный раствор.* Растворяют 27,22 г калия дигидрофосфата в 900 мл воды и доводят рН раствора фосфорной кислотой разведённой 10 % до 3,00±0,05. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 0,15 г натрия октансульфоната, 20,0 г натрия сульфата безводного, 20 мл *трет*-бутилового спирта, 50 мл буферного раствора и доводят объём раствора водой до метки..

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца нетилмицина сульфата.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг (точная навеска) стандартного образца нетилмицина сульфата, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 5 мкм; |
| Температура колонки | 50 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический 205 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 1,3-кратное от времени удерживания пика нетилмицина. |

Хроматографируют раствор стандартного образца нетилмицина сульфата и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Нетилмицин – около 4 мин.

Содержание нетилмицина сульфата 2C21H41N5O7 ∙5H2SO4 в субстанции в процентах (*Х*) в пересчёте на сухое вещество вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика нетилмицина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика нетилмицина на хроматограмме раствора стандартного образца нетилмицина сульфата; |
|  | *a*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца нетилмицина сульфата, мг; |
|  | *P* | − | содержание нетилмицина сульфата в стандартном образце нетилмицина сульфата, %; |
|  | *W* | – | потеря в массе при высушивании, %. |

Хранение. В плотно укупоренной таре, в защищенном от света месте.

\*Приводится для информации.

\*\*Испытание проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.